



دانشگاه علوم پزشکی

و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی

عنوان

بررسی اثر تیمار سلول های بنیادی مزانشیمال مخاط دهانی بر میزان ادم

مغزی و پیامدهای رفتاری و شناختی ناشی از آسیب مغزی تروماتیک تجربی

توسط

فاطمه دهقانپان

استاد راهنما

دکتر زهرا سلطانی

اساتید مشاور

دکتر محمد خاکساری حداد دکتر علیرضا فارسی نژاد

سال

شماره پایان نامه: ۵۳۷

تحصیلی (مرداد ۹۸)

تاریخ ۹۸.۵.۳۰	بسمه تعالی	 دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحصیلات تکمیلی دانشگاه
شماره ۹۸.۳.۵۳۷	صور تجلسه دفاع از پایان نامه	
کد اخلاق ۹۸.۳.۵۳۷		
جلسه دفاعیه پایان نامه خانم فاطمه دهقانکارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان "پرومسی اثر مصرف سلول های بنیادی مزانشیمال مخاط دهانی بر میزان ادم مغزی و پیامدهای رفتاری و شناختی ناشی از آسیب مغزی تروماتیک تجربی" در ساعت ۸ روز چهارشنبه مورخ ۹۸/۵/۳۰ با حضور اعضای محترم هیات داوران مشکل از:		
امضا	نام و نام خانوادگی	سمت
	سرکار خانم دکتر زهرا سلطانی	الف: استاد راهنما (اول)
	_____	ب: استاد راهنما (دوم)
	جناب آقای دکتر محمد خاکساری	ج: استاد مشاور
	جناب آقای دکتر علیرضا فارسی نژاد	د: استاد مشاور (دوم)
	سرکار خانم دکتر حمیده بشیری	د: عضو هیات داوران (داخلی)
	جناب آقای دکتر سعید کارآموزیان	ذ: عضو هیات داوران (خارجی)
	سرکار خانم دکتر حمیده بشیری	ر: نماینده تحصیلات تکمیلی
تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه عالی و نمره ۱۸/۹۲ مورد تأیید قرار گرفت.		
مهر و امضاء معاون آموزشی		

مقدمه و اهداف: آسیب مغزی تروماتیک (traumatic brain injury; TBI)، یکی از

دلایل اصلی ناتوانی و مرگ و میر در سرتاسر جهان می باشد به طوری که پیش بینی شده تا سال ۲۰۲۰، به سومین عامل مرگ و میر در جهان تبدیل خواهد شد. با وجود تحقیقات فراوان، تاکنون درمان موفقیت آمیزی برای TBI معرفی نشده است. استفاده از سلول های بنیادی، یکی از رویکردهای درمانی مورد توجه در تحقیقات پزشکی است. اثرات مفید سلول های بنیادی مزانشیمال (mesenchymal stem cell; MSC) در آسیب های سیستم عصبی مرکزی (central nervous system; CNS) از جمله TBI نشان داده شده است. در سال های گذشته MSC از منابع مختلفی مشتق شده که از بین آنها سلول های مزانشیمال مخاط دهان (oral mucosal stem cell; OMSC) که به عنوان سلول هایی با منشأ ستیغ عصبی توصیف می شوند، با توجه به قدرت ترمیمی بالای مخاط دهانی اخیرا مورد توجه قرار گرفته اند. با توجه به اهمیت و توصیه استفاده از سلول های بنیادی و از دیگر سو عدم موفقیت کافی در روش مبتنی بر دارو درمانی برای TBI، در مطالعه حاضر اثر تیمار سلول های بنیادی مزانشیمال مخاط دهان بر ادم مغزی، فشار داخل جمجمه ای (Intra Cranial Pressure; ICP)، پیامدهای نورولوژیک، هیستوپاتولوژیک، شبه اضطرابی

و شناختی در TBI منتشر ایجاد شده در موش های صحرایی نر بررسی شد.

روش تحقیق: در این مطالعه مداخله ای تجربی، از ۸۴ سر موش صحرایی نر نژاد

Wistar با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد که به چهار گروه شم (sham)، حلال

(vehicle) و سلول بنیادی (stem cell, SC) تقسیم شدند. هر گروه به سه زیر گروه ۷

تایی تقسیم شد. محتوای آب مغز و پیامد هیستوپاتولوژیک در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از TBI

ارزیابی شد. میزان ICP و پیامد نورولوژیک (با استفاده از آزمون veterinary coma scale; VCS) و حرکتی (با استفاده از آزمون beam tasks) کوتاه مدت در قبل، ۱، ۴، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از TBI بررسی شد. ارزیابی پیامد نورولوژیک (با استفاده از آزمون neurologic severity score; NSS) و حرکتی (با استفاده از آزمون OFT: open test) طولانی مدت، اضطراب (با استفاده از آزمون EPM: elevated plus maze) و حافظه (با استفاده از آزمون Morris water maze; MWM) در قبل، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از TBI صورت گرفت.

یافته ها: افزایش در خیز مغزی که ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از TBI رخ داد ، در گروه SC نسبت به گروه حلال کاهش یافت ($P<0.001$). ICP در مغز حیوان های ترومایی در همه ی زمان های بعد از آسیب افزایش یافت و این افزایش در گروه SC در یک ساعت ($P<0.05$)، چهار ساعت ($P<0.01$)، ۲۴ و ۴۸ ساعت ($P<0.001$) پس از آسیب، نسبت به گروه حلال مهار شد. NSS در حیواناتی که دچار آسیب مغزی شده بودند افزایش یافت که تجویز SC ، NSS را در گروه SC نسبت به گروه حلال بهبود بخشید ($P<0.001$). حافظه در گروه درمان نسبت به گروه حلال افزایش یافت ($P<0.05$). کاهش میزان اضطراب در گروه درمان نسبت به گروه آسیب مغزی مشاهده شد شاخص این کاهش، کاهش زمان سپری شده در بازوی بسته ($P<0.001$) و افزایش درصد زمان سپری شده در بازوی باز در روز ۳ بعد از آسیب ($P<0.01$) و روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ بعد از آسیب ($P<0.001$) در گروه SC نسبت به گروه حلال بود. در این مطالعه ، تجویز سلول بنیادی باعث بهبود پیامد

حرکتی کوتاه مدت در ۲۴ ساعت ($P < 0.001$)، در ۴۸ ساعت ($P < 0.01$) و بهبود تعادل در ۲۴ و ۴۸ ساعت ($P < 0.001$) حیوان شد. التهاب، تکثیر میکروگلیا و تخریب آکسونی از پیامدهای هیستوپاتولوژیک آسیب مغزی است که در مطالعه ی حاضر التهاب در ۲۴ و ۴۸ ساعت ($P < 0.01$) و تخریب آکسونی در ۲۴ ساعت ($P < 0.01$) و در ۴۸ ساعت ($P < 0.05$)، با تجویز سلول بنیادی کاهش یافت.

بحث و نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که تجویز OMSC بعد از آسیب، باعث کاهش خیز مغزی، کاهش التهاب، تکثیر میکروگلیا و ICP بعد از TBI شد. نقص پیامد نورولوژیک و حرکتی و همچنین رفتار شبه اضطرابی و اختلال حافظه به دنبال مصرف OMSC بعد از آسیب کاهش یافت. بهبود پیامدهای حرکتی، نورولوژیک و رفتاری شناختی بعد از آسیب مشاهده شده ممکن است به علت کاهش ادم مغزی، التهاب، ICP و فعالیت میکروگلیا به دنبال مصرف OMSC باشد. این نتایج پیشنهاد می کند که استفاده از OMSC می تواند در TBI و شاید اختلالات نورودژنراتیو در آینده مورد توجه قرار بگیرد. البته تحقیقات بیشتر نیاز است تا مکانیسم های درگیر در این مورد و همچنین ایمنی این مداخله تعیین شود.

کلیدواژه ها: آسیب مغزی تروماتیک، سلول بنیادی، خیز مغزی، فشار داخل جمجمه ای، پیامد نورولوژیک، رفتار شبه اضطرابی، پیامد هیستوپاتولوژیک

ABSTRACT

Introduction: Traumatic brain injury (TBI) is one of the leading causes of morbidity and mortality throughout the world. It will probably become the third leading cause of death in the world by the year 2020. Despite extensive research, successful treatment for TBI has not been introduced yet. The use of stem cells is one of considered therapeutic approaches in medical research. The beneficial effects of mesenchymal stem cells (MSCs) in damage of the central nervous system (CNS), including some of TBI models, have been shown. The mesenchymal cells lining of the mouth (oral mucosal stem cells; OMSCs) as cells originating from the neural crest have considered because of their high reparative potency recently. Given the importance and recommendation the use of stem cells and on other hand, the failure of drug therapy in TBI, the effect of oral mucosal mesenchymal stem cells administration after TBI was evaluated on brain edema, neurological and histopathological outcomes, and cognitive, motor and like-anxiety behaviors in rats in current study.

Methods: In this experimental study, 56 male Wistar rats weighing 250-200 g randomly assigned to four groups sham, TBI, vehicle and stem cell. Brain edema (using brain water content) and histopathological outcome were assessed 24 and 48 h after TBI. Evaluating short- time neurological (using veterinary coma scale; VCS) and motor outcome (using standard beam tasks), and recording intracranial pressure (ICP) were performed before, 1, 4, 24 and 48 hours after TBI. Motor (using open field test, OFT) and neurological outcome (using standard neurologic severity score; NSS), and memory (using water maze Morris, MWM) and anxiety-like (using elevated plus maze, EPM) behaviors were evaluated 3, 7, 14 and 21 days after TBI. TBI was induced of moderate and diffuse type.

Results: An increase in brain edema occurred after TBI ($P<0.001$), at 24 and 48 hours after injury, that reduced in SC group compared to the vehicle group ($P<0.001$). ICP increased at all times after the injury ($P<0.001$) and this increase at 1 hour ($P<0.05$), 4 hours ($P,0.01$), 24 and 48 hours after injury was inhibited in SC group compared to the vehicle group ($P<0.001$). NSS increased at all times after the damage ($P<0.001$) and reduced following administration of OMSC in the SC group compared to the

vehicle group ($P<0.001$). increased memory following administration of OMSC in the SC group compared to the vehicle group ($P<0.05$). Reduction in anxiety-like behavior post-injury was observed in the treatment group in comparison to TBI group. Reduction in this behavior was observed as increasing the percent time spent in the open arm at 3 days after TBI ($P<0.01$), and 7, 14, 21 days after TBI ($p<0.001$). decreasing the time spent in closed arm at all times after TBI ($P<0.001$) SC group in comparison to the vehicle group. Administration of OMSC also significantly improved short-term motor outcome at 24 hours ($P<0.001$), 48 hours ($P<0.01$) and balance at 24 and 48 hours after TBI SC group in comparison to the vehicle group ($P<0.001$). Increased inflammation, microglia and axonal degeneration after TBI was observed that attenuated inflammation at 24 and 48 hours after TBI ($P<0.01$), decrease axonal degeneration at 24 hours ($P<0.01$) and 48 hours after TBI ($P<0.05$) following OMSCs administration compared to vehicle group.

Conclusion: This study showed that administration of OMSC reduced brain edema, inflammation, ICP, and microglia activity after TBI. Long-term neurologic and motor outcome deficits as well as anxiety-like behavior and

memory impairment reduced following OMSC administration after injury. Improved motor, neurological, and cognitive-behavioral consequences after injury may be due to reducing inflammation and microglia proliferation after OMSC administration. The results suggest that using OMSC could be considered in TBI and perhaps other neurodegenerative disorders. However, further research is needed to finding the mechanisms involved as well as safety of this intervention.

Keywords: Traumatic brain injury, Stem cell, Brain edema, Intracranial pressure, Neurological outcome, Inflammation, Anxiety-like behavior, Histopathological outcome



KERMAN UNIVECITY
OF MEDICAL SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE

In Partial Fulfillment of the Requierments for the Degree MSc

Title

**Investigating the effect of oral mucosa mesenchymal stem
cells treatment on brain edema and behavioral and cognitive
outcome caused by experimental traumatic brain injury**

By

Fateme Dehghanyan

Supervisor

Dr. Zahra Soltani

Advisors

1-Dr. Mohammad Khaksari | 2-Dr. Alireza Farsi nezhad

Thesis NO: (537)

Date: (August, 2019)